

⑪ 公開特許公報 (A)

平2-196765

⑫ Int. Cl. 5

C 07 C 237/06
237/22

識別記号

庁内整理番号

⑬ 公開 平成2年(1990)8月3日

8519-4H
8519-4H

審査請求 未請求 請求項の数 1 (全5頁)

④ 発明の名称 (ー)-N-(2,2,5,5-テトラメチルシクロペンタンカルボニル)アラニンアミドの製造法

⑤ 特願 平1-16663

⑥ 出願 平1(1989)1月26日

⑦ 発明者 小笠 剛裕 大阪府堺市砂道町1-6-2

⑦ 発明者 池田 俊一 静岡県駿東郡長泉町下土狩1188

⑦ 発明者 佐藤 譲 大阪府堺市北清水町1-2-13

⑦ 発明者 玉置 健太郎 大阪府堺市赤坂台1-40-13

⑦ 発明者 弓野 寧久 三重県四日市市午起2-5-45

⑦ 発明者 武藤 健治 三重県四日市市生桑町2005-11

⑦ 出願人 協和醸酵工業株式会社 東京都千代田区大手町1丁目6番1号

明細書

従来の技術

1. 発明の名称

(ー)-N-(2,2,5,5-テトラメチルシクロペンタンカルボニル)アラニンアミドの製造法

2. 特許請求の範囲

2,2,5,5-テトラメチルシクロペンタンカルボニルハライドとL-アラニンアミドもしくはその塩とを反応させることを特徴とする(ー)-N-(2,2,5,5-テトラメチルシクロペンタンカルボニル)アラニンアミドの製造法。

3. 発明の詳細な説明

産業上の利用分野

本発明は顯著な甘味作用を有するN-(L-アスパルチル)-N'-(2,2,5,5-テトラメチルシクロペンタンカルボニル)-(R)-1,1-ジアミノエタンの有用な合成中間体(ー)-N-(2,2,5,5-テトラメチルシクロペンタンカルボニル)アラニンアミドの新規製造法に関する。

これまで(ー)-N-(2,2,5,5-テトラメチルシクロペンタンカルボニル)アラニンアミドの製造法としては、L-アラニンよりメチルエステル体を合成し、このL-アラニンメチルエステルと2,2,5,5-テトラメチルシクロペンタンカルボニルクロリドとを反応させ(ー)-N-(2,2,5,5-テトラメチルシクロペンタンカルボニル)アラニンメチルエステルとし、次いでアンモニアスすることにより得る方法が開示されている(特開昭61-200951号公報)。

発明が解決しようとする課題

上記した方法においては、エステル化に塩化チオニルを用いるため腐ガスに亜硫酸ガスが発生し、安全上また公害防止上からの充分な配慮が必要である。また得られたアラニンメチルエステルの塩酸塩は吸湿性で取り扱い難く、遊離型ではジケトビペラジンを巻き易いといった問題点を有している。

次のアミド化工程においては、過剰のアンモニ

アを用いるため多量のアンモニア廃ガスが発生し、また加圧下の反応条件が必要であり安全面、公害面での配慮が必要である。

また全体の製造工程を通じ、操作が煩雑であり、製造期間も長い等の問題点があり、工業的製法としては必ずしも十分ではなく、さらに有利な製造法の開発が望まれている。

課題を解決するための手段

本発明により、2,2,5,5-テトラメチルシクロペンタンカルボン酸ハライドとL-アラニンアミドまたはその塩とを反応させることを特徴とする(-)-N-(2,2,5,5-テトラメチルシクロペンタンカルボニル)アラニンアミドの製造法が提供される。

原料化合物のL-アラニンアミドおよびその塩は、例えば酵素的手段(特願昭63-70217号)で安価かつ効率的に合成することができる。反応にはL-アラニンアミドの遊離塩基体または塩酸塩、硫酸塩、p-トルエンスルホン酸塩等の塩が用いられるが、好ましくは遊離塩基体が使用され

L-アラニンアミドに対し0.6~4.0倍モル、好ましくは0.7~2.0倍モルであるが、L-アラニンアミドの塩を用いる場合は、さらに塩と等モルの塩基が使用される。

反応溶媒としてはテトラヒドロフラン、ジオキサン、ジメチルセルソルブ、塩化メチレン、クロロホルム、ジクロロエタン等の不活性溶媒、およびそれらの混合溶媒が用いられる。溶媒中のL-アラニンアミドの濃度は50%以下、好ましくは10~30%で反応を行なうことが適当である。

反応温度は-60~40℃であるが、好ましくは-20~20℃で反応を円滑に行なうことができる。反応時間は滴下時間を含めて1~8時間である。

反応終了後は洗浄、沪過等により未反応の原料、副生成物を除去した後、適当な有機溶媒より再結晶し単離精製することができる。

られた(-)-N-(2,2,5,5-テトラメチルシクロペンタンカルボニル)アラニンアミドは公知の方法(特開昭61-200940号公報)

る。

もう一方の原料化合物である2,2,5,5-テトラメチルシクロペンタンカルボン酸の酸ハライドとしては塩化物、臭化物等が包含されるが、好ましくは塩化物である。該化合物は特開昭61-200951号公報に記載の方法により得ることができるが、原料として使用する場合は精製または未精製で用いることができる。

酸ハライドの使用量はL-アラニンアミドに対し0.6~2.0倍モル、好ましくは0.7~1.0倍モルであり、そのままあるいはトルエン、テトラヒドロフラン、塩化メチレン等の不活性溶媒で希釈してL-アラニンアミドを含む溶液中へ滴下することが望ましい。

反応は生成する酸を中和するため塩基を添加しておくことが望ましく、塩基としてはトリエチルアミン、N-メチルモルホリン、N,N-ジメチルアミノピリジン、ピリジン、N,N-ジイソプロピルエチルアミン等が例示され、そのなかでもトリエチルアミンが好適に使用される。添加量は、

に従いN-(L-アスパルチル)-N'-(2,2,5,5-テトラメチルシクロペンタンカルボニル)-(R)-1,1-ジアミノエタンに変換することができる。

以下に本発明の態様を実施例および参考例によって説明する。

実施例1.

(1) 2,2,5,5-テトラメチルシクロペンタンカルボン酸8.51gをトルエン35mlに溶解し、塩化チオニル7.73gを加え80℃で3時間攪拌した。ついで反応液を室温にもどし20mmHgから25mmHgの減圧下、2時間攪拌し酸クロリド溶液を得た。

(2) L-アラニンアミド5.70gをテトラヒドロフラン30mlに氷冷攪拌下懸濁し、トリエチルアミン5.56gを加え、さらに(1)で調製した2,2,5,5-テトラメチルシクロペンタンカルボン酸クロライド溶液を1時間かけて滴下した。

滴下終了後、1時間攪拌し減圧濃縮した残渣にクロロホルム50mlとクエン酸5%水溶液30

mLを加え攪拌後分液し、クロロホルム層を無水硫酸マグネシウムで乾燥、沪過後減圧濃縮した。残渣を塩化メチレンから再結晶し(-)-N-(2,2,5,5-テトラメチルシクロペンタンカルボニル)アラニンアミドを一次結晶として8.11g(収率69.5%)を得た。母液は再び濃縮し、塩化メチレンから再結晶することにより2次結晶として1.07g(合計収率76.4%)を得た。得られた化合物の構造はガスクロマトグラフィー、赤外線吸収スペクトル(IR)および核磁気共鳴スペクトル(NMR)より標品のそれと一致することにより確認した。

実施例2.

L-アラニンアミド塩酸塩8.09gをテトラヒドロフラン40mLに氷冷攪拌下懸濁させ、N-メチルモルホリン1.12gを加えた。この溶液に2,2,5,5-テトラメチルシクロペンタンカルボニルクロリド9.43gのテトラヒドロフラン10mL溶液を45分かけて滴下した。その後、反応液を室温にもどし、さらに1時間攪拌の後、減圧濃縮し、

ラントに生育したアースロバクター・エスピーハー-4904を一白金耳植菌し、30℃、20時間振盪培養し、種培養液として用いた。

一方、グルコース3%、コーン・スチーブ・リカ-2%、ペプトン0.5%、NaCl 1%、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 2%、MgSO₄·7H₂O 0.3%、FeSO₄·7H₂O 0.001%、MnSO₄·7H₂O 0.0001%およびDL-アラニンアミド0.6%を含有するpH7.2の培地を調製し、3L容量のジャーファーメンターに1.5L分注し、120℃、20分間殺菌した。この培地に、種培養液150mLを無菌的に接種し、30℃、800rpm、通気量1vvmで、24時間培養した。得られた培養液を5000rpm、10分間、4℃で遠心分離した。得られた固体10gに、DL-アラニンアミド420g(塩酸塩として592g添加)、NaH₂PO₄·2H₂O 15.6gおよびNa₂HPO₄·12H₂O 35.8gを脱イオン水に溶解した溶液を加え、全量で2Lとした。10規定苛性ソーダでpH6.7に調整した後、反応混合液をゆるやかに攪拌しながら38℃、10時間反応を行った。

残渣にクロロホルム50mLとクエン酸5%水溶液30mLを加え攪拌後分液し、クロロホルム層を無水硫酸マグネシウムで乾燥、沪過後減圧濃縮した。残渣を塩化メチレンから再結晶し、(-)-N-(2,2,5,5-テトラメチルシクロペンタンカルボニル)アラニンアミドを一次結晶として7.09g(収率59.2%)を得た。母液は再び濃縮し塩化メチレンから再結晶することにより2次結晶として0.94g(合計収率76.7%)で目的物を得た。得られた化合物の構造はガスクロマトグラフィー、赤外線吸収スペクトル(IR)および核磁気共鳴スペクトル(NMR)より標品のそれと一致することにより確認した。

参考例1.

BYG培地〔粉末ブイヨン(極東社製)2%、酵母エキス(Difco社製)0.5%、ポリペプトン0.5%およびグルコース0.2%を含み、6規定苛性ソーダでpH7.2に調整した培地〕を、2Lのバッフル付フラスコに150mLずつ分注し、120℃、20分間殺菌した。この培地に、ブイヨンス

反応中は、6規定塩酸で、pH6.7に維持した。

反応終了後、この反応混合液の1Lを取り、pHを4.5に調整した後、イオン交換樹脂ダイヤイオノンSK1B(NH₄⁺型)(三麦化成社製)3Lに通塔し、L-アラニンアミドおよびD-アラニンを分離した。L-アラニンアミドの溶出画分を減圧濃縮により結晶を析出させた結果、75g(光学純度99.5%以上)のL-アラニンアミドを得た。

参考例2.

2,2,5,5-テトラメチルシクロペンタンカルボン酸2.51gをトルエン10mLに溶解し、塩化チオニル2.5mLを加え、80℃で3時間攪拌した。

ついで、反応液を濃縮後、減圧蒸留(110~120℃/60mmHg)し、2,2,5,5-テトラメチルシクロペンタンカルボニルクロリド2.0g(収率69%)を得た。

考例3. 最終甘味料化合物の合成

(1) (-)-N-(2,2,5,5-テトラメチルシクロペンタンカルボニル)アラニンアミド6.00

g をベンジルアルコール 20 mL に懸濁し、冷却下、ヨードベンゼンジアセテート 9.16 g を加え、同温度で 3 時間攪拌した。さらに室温で 3 時間攪拌した後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 100 mL およびクロロホルム 300 mL を加え、分液した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、沪過した。沪液を減圧下濃縮し、トルエン 20 mL より結晶化して (-)-N-(2,2,5,5-テトラメチルシクロペンタンカルボニル)-N'-ベンジルオキシカルボニル-1,1-ジアミノエタン 6.70 g (収率 77%)を得た。

融点: 146.5 °C

$[\alpha]_D^{25} = -22^\circ$ ($c = 0.2$, CH₃OH)

NMR (90MHz, CDCl₃) : δ
1.03(s, 9H), 1.06(s, 3H), 1.50(m, 7H),
1.74(s, 1H), 5.05(s, 2H), 5.18(q, J=8Hz,
1H), 7.30(s, 5H)
IR ν_{max}^{KBr} cm⁻¹: 3280, 2920, 1690, 1660,
1640, 1515

(2) (-)-N-(2,2,5,5-テトラメチルシクロペンタンカルボニル)-N'-ベンジルオキシカルボニル-1,1-ジアミノエタン 3.46 g をテトラヒドロフラン 30 mL に溶解し、酢酸 1.20 g および 10% パラジウム-炭素触媒 350 mg を加え水素を吹き込みながら、室温、大気圧下、5 時間攪拌した。反応後、トリエチルアミン 1.01 g を加え、触媒を沪別した。沪液を約 10 mL となるまで減圧下濃縮した (A 溶液)。

$N^{\alpha}-$ ベンジルオキシカルボニル- β -ベンジル- γ -アスパラギン酸 3.57 g をテトラヒドロフラン 10 mL および N,N-ジメチルホルムアミド 10 mL の混合溶媒に溶解し、-78 °C に冷却した。ついでトリエチルアミン 1.01 g をテトラヒドロフラン 3 mL に溶解した液およびクロルギ酸イソブチル 1.37 g をテトラヒドロフラン 3 mL に溶解した液を加え、1 時間攪拌した (B 溶液)。

B 溶液に -78 °C で A 溶液を添加し、同温

度で 30 分間攪拌した後、さらに室温で 1 時間攪拌した。ついで、水 200 mL を加え、酢酸エチル 350 mL で抽出した。有機層を 10% クエン酸水溶液 100 mL、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 150 mL、および飽和食塩水で順次洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、沪過した。沪液を減圧濃縮し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルムで溶出) により精製し、N-(N^α-ベンジルオキシカルボニル- β -ベンジル- γ -アスパルチル)-N'-(2,2,5,5-テトラメチルシクロペンタンカルボニル)-(R)-1,1-ジアミノエタン 4.36 g (収率 79%) を結晶として得た。

融点: 115.7 °C

$[\alpha]_D^{25} = -28.5^\circ$ ($c = 0.2$, CH₃OH)

NMR (90MHz, CDCl₃) : δ
1.04(s, 9H), 1.08(s, 1H), 1.44(d, J=8Hz,
3H), 2.84(ABdq, J_{AB}=18Hz, J_{AX}=J_{AY}=
6Hz, 2H), 4.48(m, 1H), 5.06(s, 4H),

5.28(q, J=8Hz, 1H), 7.30(s, 10H)

IR ν_{max}^{KBr} cm⁻¹: 3350, 3290, 3240,
2920, 1740, 1710, 1650, 1540, 1510

(3) N-(N^α-ベンジルオキシカルボニル- β -ベンジル- γ -アスパルチル)-N'-(2,2,5,5-テトラメチルシクロペンタンカルボニル)-(R)-1,1-ジアミノエタン 5.52 g をメタノール 50 mL および水 20 mL の混合溶媒に溶解し、10% パラジウム-炭素触媒 1.1 g を加え、1.5 kg/cm² 水素圧下、常温で 5 時間接触還元を行った。反応後触媒を沪別し、沪液を減圧下濃縮した。残渣を水 20 mL より結晶化させ、N-L-アスパルチル-N'-(2,2,5,5-テトラメチルシクロペンタンカルボニル)-(R)-1,1-ジアミノエタン 2.26 g (収率 69%) を得た。

$[\alpha]_D^{25} = 19.7^\circ$ ($c = 1$, H₂O)

IR ν_{max}^{KBr} cm⁻¹: 3300, 1670, 1555, 1505
NMR (90MHz, DMSO-d₆) : δ
1.04(s, 12H), 1.24(d, J=8Hz, 3H), 1.48

(m, 4H), 1.96(s, 1H), 3.70(m, 1H)

発明の効果

本発明によれば、甘味剤の有用合成中間体(-)
-N-(2,2,5,5-テトラメチルシクロヘンタン
カルボニル)アラニンアミドの新規製造法が提供
される。

特許出願人 (102) 協和醸酵工業株式会社

代表者 加藤幹夫

